

**UNIVERSIDAD INCA
GARCILASO DE LA VEGA**



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“OBTENCIÓN DE POLIFENOLES DE HOJAS DE *Genipa americana* (JAGUA) Y EVALUACION DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA EN CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS.”

**Tesis para optar al Título Profesional de Químico
Farmacéutico y Bioquímico**

BACHILLERES:

**ELIZABETH ÉRICA MANGO MAMANI
JANETH DURAND ALDAVA**

ASESOR:

Dr. BONILLA RIVERA PABLO ENRIQUE

FECHA DE SUSTENTACIÓN:

15 DE MARZO DEL 2018

**LIMA – PERÚ
2018**

TÍTULO:

“OBTENCIÓN DE POLIFENOLES DE HOJAS DE *Genipa americana* (JAGUA) Y EVALUACION DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA EN CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS.”

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado lo más valioso; la alegría de vivir, guiarme todos los días de mi vida, por su bondad y su amor.

A mis padres por su inmenso amor, comprensión, y su gran apoyo incondicional durante todo el transcurso de mi carrera profesional y enseñarme que con paciencia y perseverancia se puede alcanzar todo lo que te propones.

A mis hermanos por su apoyo, cariño, y brindarme los mejores momentos de mi vida.

AGRADECIMIENTO

A Dios por guiar mi camino constantemente.

A mis padres por enseñarme lo más valioso el sacrificio y el apoyo incondicional.

A mis amigos de una u otra forma estuvieron alentándome con sus consejos, compartiendo anécdotas, intercambiando conocimientos y opiniones.

A los Asesores:

Dr. PABLO ENRIQUE BONILLA RIVERA, por su asesoría, tiempo dedicado y apoyo permanente durante todo el proceso del trabajo experimental.

Dra. MARIA ELENA SALAZAR SALVATIERRA, por habernos dedicado una importante parte de su tiempo en compartir sus conocimientos y apoyarnos en la parte microbiológica, durante la ejecución de la parte experimental.

A todos los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, por guiarnos con sus conocimientos, a lo largo de mi carrera profesional.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria

Agradecimientos

Índice de Tablas

Índice de Figuras

Índice de Anexos

Resumen

Abstract

Introducción 1

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... 2

1.1 Realidad problemática..... 2

1.2 Formulación del Problema 3

1.2.1. Problema General..... 3

1.3 Objetivos de Investigación 3

1.3.1. Objetivo General 3

1.3.2. Objetivos Específicos..... 3

1.4 Justificación 3

CAPITULO II: MARCO TEORICO 5

2.1 Antecedentes de la investigación 5

2.1.1 Nacionales 5

2.1.2 Extranjeros..... 6

2.2 Bases teóricas 8

2.2.1 Generalidades de *Genipa americana* (jagua)..... 8

2.2.1.1 Características..... 8

2.2.1.2 Clasificación Taxonómica 9

2.2.1.3 Propiedades 9

2.2.1.4 Usos 10

2.2.1.5 Compuestos de la *Genipa americana* (jagua) 10

2.2.2 Polifenoles 11

2.2.2.1 Propiedades Beneficiosas de los polifenoles a

Nivel cardiovascular..... 11

2.2.2.2 Biodisponibilidad de polifenoles en la dieta.....	12
2.2.3 Generalidades de las bacterias Gram positivos y Gram negativos...	13
2.2.3.1 <i>Escherichia coli</i>	13
2.2.3.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
2.2.3.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.2.3.4 <i>Bacillus subtilis</i>	14
2.3 Formulación de hipótesis	15
2.4 Variables	15
2.4.1 Operacionalización de variables	15
2.4 Marco conceptual.....	16
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	17
3.1 Tipo de estudio.....	17
3.2 Nivel.....	17
3.3 Diseño.....	17
3.4 Población	17
3.5 Muestra	17
3.6 Estudio Microbiológico	17
3.6.1 Población	17
3.6.2 Muestra.....	18
3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	18
3.8 Procedimiento Experimental.....	18
3.8.1 Recolecta de la Muestra Vegetal	18
3.8.2. Preparación de la Muestra	18
3.8.3 Obtención del Extracto.....	18
3.8.4. Ensayos fitoquímicos	19
3.8.5 Evaluación de la Actividad Antibacteriana.....	20
CAPITULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS	22
4.1 Resultados	22
4.2 Discusión de resultados	32
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	34
5.1 Conclusiones	34

5.2 Recomendaciones	35
Referencias Bibliográficas.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 01: Porcentaje de rendimiento del extracto de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	22
Tabla 02: Prueba de solubilidad del extracto de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	23
Tabla 03: Marcha fitoquímica del extracto de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	24

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Extracto seco de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	22
Figura 2: Prueba de solubilidad de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	23
Figura 3: Marcha fitoquímica del extracto de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	24
Figura 4: Cromatografía en capa fina analítica a) 254 nm y b) 365 nm de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	25
Figura 5: Cromatografía en escala preparativa a) 254 nm y b) 365 nm de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	25
Figura 6: Muestra 1 a) Espectro UV-Vis b) Estructura propuesta	26
Figura 7: Muestra 3 a) Espectro UV-Vis b) Estructura propuesta	27
Figura 8: Muestra 7 a) Espectro UV-Vis b) Estructura propuesta	28
Figura 9: Muestra 14 a) Espectro UV-Vis b) Estructura propuesta	29
Figura 10: Lectura de Placa con <i>Pseudomona aeruginosa</i>	30
Figura 11: Lectura de Placa con <i>Bacillus Subtilis</i>	30
Figura 12: Lectura de Placa con <i>Escherichia coli</i>	31
Figura 13: Lectura de Placa con <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Figura 14: Hojas seleccionadas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	41
Figura 15: Fotografía del fruto de <i>Genipa americana</i> (jagua)	41
Figura 16: Fotografía de la solución de 500 g de hojas de <i>Genipa</i> <i>americana</i> (jagua), en 2.5 L de etanol	42
Figura 17: Fotografía del proceso de filtración de la solución de las hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua)	42
Figura 18: Fotografía de la solución de hojas de <i>Genipa americana</i> lista para el secado del extracto en la estufa	43
Figura 18: Fotografía del extracto seco de las hojas de <i>Genipa americana</i> ..	43
Figura 19: Fotografía de la prueba de solubilidad del extracto seco de hojas de <i>Genipa americana</i>	44
Figura 20: Fotografía de la marcha fitoquímica del extracto seco de hojas de <i>Genipa americana</i>	44
Figura 21: Fotografía del análisis cromatográfico en capa fina del extracto seco de hojas de <i>Genipa americana</i>	45

Figura 22:	Fotografía del análisis cromatográfico en capa preparativa del extracto seco de hojas de <i>Genipa americana</i>	45
Figura 23:	Fotografía de las placas Petri listas para la incubación por 24 h ..	46
Figura 24:	Fotografía de la lectura de placa con <i>Escherichia coli</i> , no se observan halos de inhibición	46
Figura 25:	Fotografía de la lectura de placa con <i>Bacillus subtilis</i> , no se observan halos de inhibición	47
Figura 26:	Fotografía de la lectura de placa con <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , no se observan halos de inhibición.....	47
Figura 27:	Fotografía de la lectura de placa con <i>Staphylococcus aureus</i> , no se observan halos de inhibición.....	48

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1	Matriz de Consistencia	41
Anexo N° 1	Testimonios Fotográficos	42

RESUMEN

Dentro de los compuestos fenólicos, podemos distinguir varios grupos dentro de ellas, los flavonoides, se subdividen principalmente en flavonas, flavononas, isoflavonas, flavonoles, antocianinas y chalconas. Son metabolitos de gran importancia en plantas de uso medicinal, debido a su actividad biológica como antioxidantes, antiinflamatorias, cicatrizantes entre otros. La capacidad antioxidante de estas sustancias, tienen una relación muy estrecha con aspectos de la salud humana, especialmente con enfermedades cardiovasculares. Mediante medicina tradicional se viene utilizando durante varios años en las regiones amazónicas del Perú la planta silvestre de *Genipa americana* (jagua), tiene distintos usos, para combatir distintas afecciones que aqueja a la población. Es por ello que el presente estudio tiene como objetivo encontrar los tipos de polifenoles presentes en la hoja y evaluar la actividad antibacteriana *In vitro* del extracto etanólico de hojas de *Genipa americana* (jagua), mediante el método Difusión de Disco en agar, en cultivos microbiológicos, la evaluación se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se realizó el cultivo de bacterias Gram positivas y Gram negativas, como muestra se usó el extracto de hojas de *Genipa americana* (jagua). Se hizo 3 tratamientos y 3 repeticiones. El TI fue el tratamiento control, TII y TIII fueron soluciones del extracto al 50% y 100% respectivamente, se incubaron por 24 horas aproximadamente y luego se realizó la lectura de placas correspondiente, donde no se observaron halos de inhibición. En las hojas se encontraron varios tipos de flavonas que son compuestos polifenólicos que tendrían actividad biológica como antiinflamatoria, cicatrizante y antioxidante. Por los resultados hallados podemos afirmar que el extracto de las hojas de *Genipa americana* no posee actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos, pero con la recomendación de profundizar más este estudio en el futuro.

Palabras clave: jagua, polifenoles, actividad antibacteriana, flavonoides, extracto.

ABSTRACT

Within the phenolic compounds, we can distinguish several groups within them, the flavonoids, are subdivided mainly into flavones, flavonones, isoflavones, flavonols, anthocyanins and chalcones. They are metabolites of great importance in medicinal plants, due to their biological activity as antioxidants, anti-inflammatory, healing among others. The antioxidant capacity of these substances have a very close relationship with aspects of human health, especially with cardiovascular diseases. Traditional medicine has been used for several years in the Amazonian regions of Peru the wild plant of *Genipa americana* (jagua), giving different uses to different parts of the wild plant, to combat various conditions afflicting the population. That is why the present study aimed to find the types of polyphenols present in the leaf and to evaluate the antibacterial activity In vitro of the ethanolic extract of leaves of *Genipa americana* (jagua), by means of the Disk diffusion method in agar, in microbiological cultures, the evaluation was carried out in the Microbiology laboratory of the National University of San Marcos. The cultivation of Gram positive and Gram negative bacteria was carried out, as sample was used the extract of leaves of *Genipa americana* (jagua). There were 3 treatments and 3 repetitions. The IT was the control treatment, TII and TIII were solutions of the extract at 50% and 100% respectively, were incubated for approximately 24 hours and then the corresponding plates were read, where no inhibition halos were observed. In the leaves were found several types of flavones that are polyphenolic compounds that would have biological activity as anti-inflammatory, healing and antioxidant. From the results found, we can affirm that the extract of the leaves of *Genipa americana* does not possess antibacterial activity in microbiological cultures, but with the recommendation to further deepen this study in the future.

Keywords: jagua, polyphenols, antibacterial activity, flavonoids, extract.

INTRODUCCIÓN

Gran parte de la población mundial, están efectuando estudios sobre diferentes especies de plantas consideradas como medicinales, ya que son empleadas en la medicina tradicional, por sus diferentes propiedades fitoterapéuticas que se les atribuyen.

En la actualidad la Fitoterapia es la Ciencia que se encarga del estudio de productos de origen vegetal, con un fin terapéutico, para prevenir o tratar distintos estados patológicos.

Los polifenoles son metabolitos de gran importancia en plantas de uso medicinal, debido a su actividad biológica como antioxidantes, antiinflamatorias, cicatrizantes entre otros. Los flavonoides están relacionadas con la actividad biológica como antioxidantes y muchos estudios e investigaciones certifican los beneficios en la salud humana, como la neutralización de los radicales libres.

Por otra parte existe un amplio grupo de especies de bacterias que son patógenas para el ser humano, es decir, causantes de enfermedades. El efecto patógeno varía mucho en función del tipo de especie y depende tanto de las condiciones del organismo. Las enfermedades más comunes causadas por bacterias son: el cólera, tétano, gangrena gaseosa, lepra, peste, tuberculosis, sífilis, fiebre tifoidea, neumonía, entre otros.¹

La planta *Genipa americana* (jagua) es originario de las zonas templadas, crece en forma silvestre en nuestra Amazonia Peruana y viene siendo utilizado por los pobladores de la zona para combatir distintas afecciones que aqueja a la comunidad.

Actualmente el uso de la medicina alternativa, está muy extendido; es de gran importancia y representa un potencial con lo que respecta a la biodiversidad amazónica. El Perú posee aproximadamente 25 mil especies en el cual se encuentra una gran riqueza de diversidad en flora.²

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA

Según Es Salud (2013), en la actualidad, el sistema de salud de nuestro país es muy deficiente, con una amplia limitación de cobertura en la disponibilidad de medicamentos para cubrir el alto porcentaje de las demandas de la comunidad y zonas rurales más alejadas del estado peruano, cabe mencionar también la falta de centros de salud en los lugares alejados (zonas rurales). El cuidado de la salud de la población en general se agravan cada vez más, ya que son comunidades que no cuentan con los recursos necesarios, y a la vez la dotación de medicamentos es insuficiente, de modo que se convierte en un problema de salud pública.³

Actualmente se destaca la importancia de una adecuada nutrición, ya que forma parte de uno de los ejes principales para prevenir distintas patologías o enfermedades. De acuerdo a muchos estudios e investigaciones afirman que una mala alimentación se relaciona directamente con el desarrollo de múltiples patologías, provocando cada vez un alto porcentaje de morbilidad y mortalidad.

Se considera que las bacterias son microorganismos con un alto grado de patogenicidad; un agente patógeno causante de innumerables infecciones y enfermedades en todo el ámbito; tanto en la comunidad como a nivel hospitalario.¹

Convirtiéndose así cada vez más en un problema de salud pública, ya que si las infecciones no son tratadas a tiempo; las cuales agravan el estado patológico inicial, y en algunos casos tratamientos incompletos, como consecuencia se produce resistencias bacterianas. El objetivo para este estudio fue encontrar los tipos de polifenoles presentes en la hoja de *Genipa americana* (jagua) y evaluar si el extracto de hojas posee actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos. Por lo que en esta investigación lo

que se quiere encontrar son alternativas con tratamientos fitoterapéuticos para la población que no cuenta con fácil acceso a medicamentos y dar un aporte al conocimiento científico en la investigación.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

- ¿Qué tipos de polifenoles estarán presentes en las hojas de *Genipa americana* (jagua) y tendrán actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos?

1.3 OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo general

- Determinar el tipo de polifenoles que tienen las hojas de *Genipa americana* (jagua) y evaluar si tienen actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos.

1.3.2 Objetivos específicos

- Preparar el extracto etanólico de las hojas de *Genipa americana* (jagua) y obtener los polifenoles.
- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Genipa americana* (jagua).

1.4 JUSTIFICACIÓN

Actualmente, pocos son los países poseedores de una gran diversidad de especies vegetales, es un gran reto para muchos investigadores que dedican su vida, a realizar estudios e investigaciones de los recursos naturales, con la finalidad de encontrar sustancias activas y formar parte del aprovechamiento y la explotación sostenible de la diversidad biológica en beneficio de la sociedad. La comunidad o población rural desde hace mucho en la historia han practicado curaciones de muchas afecciones, con el uso de diversas plantas medicinales, la cual se convirtió en una alternativa de solución a diferentes problemas de salud que aqueja la población en general, frente a una limitada disponibilidad de medicamentos y tratamientos adecuados.

También es importante destacar hoy en día la correcta y buena nutrición, ya que forma parte importante en la prevención de distintas patologías, ya que muchas investigaciones afirman que una desordenada y mala alimentación tiene relación directa en la aparición de diferentes patologías o múltiples enfermedades, provocando cada vez un alto porcentaje de morbilidad y mortalidad. Los polifenoles son compuestos activos, dentro de su clasificación encontramos a los flavonoides con propiedades antioxidantes muy importante en la salud humana y especialmente en enfermedades cardiovasculares.

En la actualidad, diversos tipos de microorganismos patógenos generan una infinidad de patologías o infecciones, en la comunidad como a nivel hospitalario y, en muchos casos, causan resistencia bacteriana a varios de los medicamentos indicados para este tipo de enfermedades infecciosas. Por ello, se está recurriendo a estudios de diferentes especies de plantas, especialmente de las regiones selváticas. Es por ello que mediante cultura tradicional se viene utilizando durante varios años en las regiones amazónicas del Perú la planta de *Genipa americana* (jagua), originaria de las zonas templadas, que crece en forma silvestre en nuestra amazonia (Pucallpa, Tingo María, Tarapoto), y se usa para el tratamiento de diferentes afecciones de la población ;por ende ,fue de vital importancia, para este estudio encontrar los tipos de polifenoles y evaluar si el extracto de hojas de *Genipa americana* (jagua),posee actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos. El empleo de productos alternativos en el tratamiento de diversas afecciones que aqueja a la comunidad, nos permitirá brindar tratamientos fitoterapéuticos que no presenten las desventajas, de los tratamientos actuales como es el caso más común de las resistencias bacterianas, reacciones adversas. A la vez esta investigación nos permite aportar en el conocimiento científico.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1 Nacionales

Crisóstomo A. (2014). “Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto del Jagua (*Genipa americana* L.) Frente a *Staphylococcus* sp, de la Universidad Hermilio Valdizán, Huánuco”.

El objetivo es determinar la actividad antibacteriana del fruto maduro de *Genipa americana* (jagua), frente a *Staphylococcus* sp. Se recolecto una cepa de la mucosa oral para aislarla y posteriormente hacer un antibiograma, como muestra se usó la muestra de Jagua. Se hizo 7 tratamientos y 8 repeticiones. El T1 fue el tratamiento control, TII, TIII Y TIV fueron soluciones del extracto de jagua al 50%,75% y 100% respectivamente; TV se utilizó La pulpa y finalmente en TVI y TVII se utilizaron discos de sensibilidad antibacteriana de eritromicina y amoxicilina + ácido clavulánico respectivamente. Se obtuvo halos de inhibición más representativos en los TIII (75%) y TIV (100%) con halos promedio de 17.1 mm y 22.6 mm, estadísticamente similar actividad antibacteriana que la amoxicilina + ácido clavulánico. Por los resultados hallados podemos afirmar que la fruta posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus* sp.⁴

Rojas C. et. (2013). “Aislamiento de pigmentos de huito (*Genipa americana*) y aplicación en teñido de fibras proteicas (Alpaca)”, Universidad Nacional de Ingeniería. Lima-Perú.

El tinte se obtiene haciendo hervir la pulpa del fruto verde con agua desionizada, posteriormente se filtra la mezcla. Con respecto a la fibra de alpaca, primero se realiza el descrude, que nos ayuda a eliminar las impurezas naturales propias de las fibras, en la cual se emplea el método Wool Spinning y luego se pasa a realizar el blanqueo de fibra. Finalmente se procede al teñido de la fibra (5g de fibra de alpaca /100 mL de azul de

huito).La intensidad del teñido dependerá de la variación de los parámetros: temperatura, concentración, tipo de ácido. En la evaluación de solidez, en la solidez al frote se logró gran resultado en seco que en húmedo, y en la solidez al lavado se alcanzó un resultado aceptable.⁵

2.1.2 Extranjeros

Lares, C. (2014). “Obtención de Genipina a partir de frutos de caruto (*Genipa americana* L.), del llano venezolano”. Artículo Científico. Facultad de Ciencias. Venezuela.

La finalidad del presente estudio fue extraer, caracterizar, y cuantificar el contenido de Genipina. Se realizó el procedimiento adecuado para la maceración de los frutos verdes en CHCl_3 , y posteriormente lograr el extracto y partir de ello la obtención de dicho compuesto. El resultado del rendimiento del extracto fue bajo ($0,030 \pm 0,005\%$); En cambio, a comparación de los mismos frutos pero; conservados bajo refrigeración por un periodo de 41 días, se logró un mejor resultado en relación al rendimiento ($0,44 \pm 0,06 \%$).El extracto seco obtenido fue caracterizado mediante espectroscopia de FTIR y RMN y preparación del derivado mono 10-(3,5-dinitrobenzoato) de Genipina (monoéster del hidroxilo primario en la Genipina).⁶

Tenesaca S. (2012). “Elaboración de cosméticos decorativos a partir de frutos verdes de *Genipa americana* L.” Tesis de grado Bioquímico Farmacéutico. Riobamba-Ecuador.

El componente principal en el trabajo desarrollado fue el Genipósido, ya que es el responsable de la coloración negro azul al estar en contacto con grupos aminos primarios que se encuentra en el colágeno de la piel. Se procedió a aislar 3,5mg de Genipósido, se concluyó una óptima extracción de la sustancia, al usar etanol 50%, a 20°C y en relación al sistema de solventes en una proporción de (1:30).Se elaboró un producto cosmético, un delineador semipermanente tipo emulsión O/W; se realizaron los estudios físicos químicos necesarios. Finalmente el producto cosmético presentó características deseables y cumple con las especificaciones de referencia.⁷

Álvarez, G. (2013), “Extracción, caracterización y valoración de Genipina a partir del Fruto de la *Genipa americana*”, Facultad de ciencias naturales. Santiago de Cali.

El estudio se desarrolla a partir de frutos verdes de *Genipa americana*, se realizó la extracción de Genipina; mediante el método de extracción líquido – líquido, se empleó como solvente acetato de etilo, y se pudo realizar la separación mediante cromatografía flash, en función a la valoración del compuesto en estudio se realizó por Cromatografía Líquida. Posteriormente para dicha caracterización de genipina se utilizó técnicas instrumentales como: Espectrometría de masas con Ionización por Electrospray (ESI-MS), Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), UPLC y Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Teniendo como resultado un porcentaje de rendimiento del 45 % de genipina de alta pureza; utilizada como colorante.⁸

Martínez, A. (2016), “Elaboración de un producto cosmético para tinción del cabello a partir del extracto de los frutos del huito, planta nativa del Centro Cultural uni-shu de la comuna Chiguilpe de Santo Domingo de los Tsáchilas”, Facultad de Ciencias Médicas Farmacia y Bioquímica. Ambato-Ecuador.

Se realizó identificación de la clasificación taxonómica, ensayos fisicoquímicos, tamizaje fitoquímico, y estudios microbiológicos y así para lograr identificar los componentes activos presentes en el fruto verde de *Genipa americana* y finalmente preparar el tinte natural que se requiere, con el respectivo control de calidad. Se comprobó la presencia de compuestos como: taninos, triterpenos, azúcares reductores, y flavonoides lo que indicaría propiedades como: astringentes, antibacteriano, y Diabetes. Así como también se identificó el compuesto de Genipina cuya responsabilidad sería la de tinte natural. La elaboración del tinte se realizó con el fin de restituir el color del cabello canoso, el tinte natural posee muchas ventajas, tiene un costo accesible, aplicación fácil y sencilla, a la vez se comprobó que no causa ningún efecto secundario al ser un producto sumamente natural.⁹

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Generalidades de *Genipa Americana* (jagua)

El árbol silvestre de *Genipa americana* (jagua) es una especie del género *Genipa*, se llega a expandir probablemente desde las cuencas Amazónicas, logrando así su distribución mediante los Trópicos Americanos por las comunidades indígenas en tiempos prehistóricos. Crece en elevaciones que van desde el nivel del mar hasta los 1200 m, y una temperatura media anual de 18 a 30 °C.¹⁰

Hoy en día, los árboles de (jagua), se encuentra esparcida en América Tropical y el Caribe, posiblemente sea proveniente de América del Sur donde se halla en árboles cultivados o silvestres. En nuestra Amazonia del Perú la podemos encontrar en distintas partes de la zona selvática.¹⁰

2.2.1.1 Características

“*Genipa americana* es un árbol de tamaño pequeño a mediano, de 8 a 20 m de altura, sin embargo se encuentran especímenes de hasta 30 metros. El diámetro del tronco es de 30 a 80 cm y tiene una corteza gruesa y suave”.¹¹

“Cuenta con una copa densa, con 10 a 35 hojas en los extremos. En la mayor parte de la cuenca del Amazonas, los árboles florecen de mayo a setiembre y dan frutos entre setiembre y abril. Los frutos tardan hasta un año para madurar. En la mayoría de los árboles, las abejas polinizan las flores. Su fruto es grande, tipo baya, de 9 a 15 cm de largo, 7 a 9 cm de ancho, con un peso entre 200 y 400 gramos, tiene una capa delgada y correosa de 1 a 2 cm de espesor, y su pulpa es de color amarillo - marrón. La cavidad central contiene hasta 300 semillas, encerradas en las membranas. Las semillas son duras, planas y de color marrón oscuro. Son de 10 a 12 mm de longitud y por lo general se cuentan 10 000 en un kg. La germinación es alta, pero lento el crecimiento inicial. Las flores están agrupadas en inflorescencias terminales. Son grandes, con cinco pétalos de color blanco o amarillo y ligeramente perfumado”.^{10, 11}

2.2.1.2 Clasificación Taxonómica

Según el Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana¹² se ubica en la siguiente categoría taxonómica:

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Gentianales*

Familia: *Rubiaceae*

Subfamilia: *Ixoroideae*

Tribu: *Gardenieae*

Género: *Genipa*

Especie: *Americana*

Nombre Científico: *Genipa americana*.

Nombres comunes: “huito, jagua, y genipa (en Latinoamérica), genipap y genipa (ingles), bois de fer (francés) y genipapo (portugués)”.¹³

2.2.1.3 Propiedades

Los frutos de *Genipa americana* se considera que son diuréticas, el jugo del fruto se recomienda en problemas estomacales, principalmente en casos de enteritis crónica. A la vez se utiliza en problemas respiratorios más comunes, especialmente la bronquitis y asma.

En relación al fruto verde cuenta con varias propiedades ya que, son astringentes, antiinflamatoria, cicatrizante, y antihemorrágica. También se puede tostar una porción y frotarla en la piel para protegerse de los insectos, es decir se usa como repelente.

La raíz tiene propiedades purgativas, laxantes, mientras que la corteza del tronco en decocción trata úlceras que se generan a causa de escorbuto. Además de combatir algunos tipos de anemia y afecciones del hígado.^{4, 13}

2.2.1.4 Usos

Genipa americana es cultivada con fines comestibles, del fruto maduro se preparan bebidas, mermeladas; también se pueden hacer helados y polvos azucarados. Los pobladores de la Amazonía consumen la pulpa del fruto maduro, en infusiones o bebidas, para tratar la bronquitis. También a partir del fruto maduro se prepara un licor macerado en aguardiente, llamado huitochado.^{12, 13}

En las zonas nativas los indígenas utilizan como pintura corporal, el fruto verde que inicialmente es incoloro, pero que luego de unas horas ocurre una reacción química al contacto con la piel, de color azul oscuro, pero llega a desaparecer poco a poco con el paso de los días, gracias a la regeneración de la epidermis. En ocasiones los indígenas y pobladores de la zona aplican la pulpa del fruto verde tostado y frotan sobre la piel y lo utilizan como repelente. El fruto verde en infusión se usa contra las hemorragias. Hay estudios que explican su actividad bactericida; probablemente debido al fenol.¹⁴

2.2.1.5 Compuestos de la *Genipa Americana*

Dentro de los compuestos tenemos los siguientes:

- ❖ Lípidos: ácidos grasos y fitoesteroides.
- ❖ Compuestos polifenólicos y taninos.
- ❖ Flavonoides: 3', 4',5', 5,7-pentahidroxi-6,8-dimetoxiflavona, 3', 4', 5,7-tetrahidroxi- 6,8-dimetoxiflavona, 4', 5, 6,7-tetrahidroxi-3'-metoxiflavona, 4'-metoxiflavona.
- ❖ Iridoides: Genipina que se obtiene a partir del Genipósido.
- ❖ Monoterpenoides: genipacetal, genipaol.
- ❖ Alcaloides: cafeína.
- ❖ Ácidos como : el ácido tartárico y alcoholes orgánicos: como el manitol.¹⁵

2.2.2 Polifenoles

Son compuestos activos provenientes de origen natural, saludables y ayudan a prevenir diferentes enfermedades, especialmente enfermedades cardiovasculares. Como característica presenta uno o más anillos de

estructura bencénica perteneciente a los compuestos aromáticos. Se les encuentra en todos los órganos de la planta: raíces, hojas, frutos y semillas.¹⁶

Dentro de su clasificación tenemos a los no flavonoides y los flavonoides, (flavanoles, flavonoles, flavanonas, flavonas, isoflavonas, antocianidinas), son conocidos por sus propiedades antioxidantes, también poseen otras actividades biológicas beneficiosas para la salud humana, especialmente sobre el sistema cardiovascular.^{16, 17}

Los flavonoides son los compuestos fenólicos de mayor cantidad y con altas propiedades antioxidantes, tenemos la quercetina que se encuentra presente en frutos como la manzana o también en hortalizas como las cebollas; y la catequina que la podemos encontrar en uvas y cacao.¹⁷

2.2.2.1 Propiedades Beneficiosas de los polifenoles a nivel cardiovascular

Existen numerosos estudios, investigaciones que avalan las propiedades biológicas de los polifenoles. En su mayoría son Flavonoides que actúan como defensa, y capaces de neutralizar los procesos oxidativos (estrés oxidativo), como los radicales libres. Los polifenoles son antioxidantes con propiedades vasodilatadoras y vasoprotectoras, mejorando el control del tono arterial. Algunos estudios desarrollados han demostrado la capacidad de estos compuestos activos en inhibir la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), incrementando la acción vasoconstrictora y posteriormente provoca una elevada resistencia vascular periférica y por ende hipertensión arterial. Las enfermedades cardiovasculares tienen un importante proceso inflamatorio. Entonces esto implica que cuando se produce estrés oxidativo ocurre un incremento de enzimas como la ciclooxigenasa o COX productoras de sustancias llamadas prostaglandinas, siendo estas responsables de procesos inflamatorios, y la lipoperoxidación o peroxidación lipídica (LPO), también son causantes de procesos inflamatorios. Se ha demostrado

que Tenemos compuestos fenólicos como: la quercetina, puede inhibir la COX y la LPO. El resveratrol es una molécula activa con actividad antiinflamatoria, ya que puede inhibir la síntesis de prostaglandinas.¹⁸

2.2.2.2 Biodisponibilidad de polifenoles en la dieta

Gran número de compuestos polifenólicos no pueden ser absorbidos de la forma en que se encuentran presentes en los alimentos como ésteres, glucósidos o polímeros, estos compuestos activos tienen que pasar un proceso de hidrólisis en el intestino con la ayuda de enzimas digestivas y ser degradadas en moléculas más pequeñas y poder ser absorbidas con mayor facilidad.¹⁹

Existen varios factores del medio ambiente que interfieren en la concentración de contenido de polifenoles, el clima, si ésta es expuesta al sol o lluvia, prácticas agronómicas, el grado de madurez, tienen un efecto considerable de los antioxidantes. Los métodos culinarios también están relacionadas con el contenido o la cantidad de compuestos polifenólicos. Existen muchos casos en donde la mayoría de personas realiza el pelado de la fruta o verdura, cometiendo un error y por desconocimiento eliminando una gran proporción de éstas ya que, existe gran número de polifenoles que se encuentra en mayor concentración en la parte externa, es decir, en la cáscara.²⁰

2.2.3 Generalidades de las bacterias Gram positivos y Gram negativos

La Bacteriología forma parte de la Microbiología, es la Ciencia que se dedica al estudio de bacterias, ya que han formado parte de la humanidad desde principios de la historia del ser vivo.²¹

“Las bacterias son microorganismos y tienen una de las formas de vida microscópica más antiguas y abundantes del planeta tierra, distribuidas a lo largo de todos los hábitats posibles; muchas de ellas están encargadas de muchos de los procesos de descomposición y por lo tanto reciclaje de la

materia orgánica y la energía, así como en la fijación del nitrógeno atmosférico. Al mismo tiempo, gran parte de ellas son capaces de parasitar a los seres vivos, tanto animales como vegetales, a través de lo que se conoce como infecciones”.²¹

“Numerosas especies de bacterias han podido ser cultivadas en laboratorio y se emplean en distintas industrias en procesos de elaboración de alimentos, en realidad un amplio porcentaje de las especies existentes siguen sin describirse. Las bacterias son responsables de millones de muertes de personas a nivel mundial a causa de las innumerables patologías infecciosas”.²²

“Aquellas bacterias que tienen forma esférica u ovoide se denominan cocos. Y si se tiñen de azul con el Gram, se les llama Gram positivos. Cuando los cocos se agrupan en cadenas, se les denomina estreptococos y cuando lo hacen en racimos, se les llama estafilococos; también se pueden agrupar en pares que reciben el nombre de diplococos, las que tienen forma de bastón reciben el nombre de bacilos. Si al teñirlos con el Gram quedan de color rojo, se les denomina Gram negativos”.²³

2.2.3.1 *Escherichia coli*

Es un agente patógeno, pertenece al grupo de las bacterias Gram negativas, que normalmente vive en los intestinos de los seres humanos y animales. Hay diferentes tipos de *E. coli*. La mayoría se encuentra de forma natural en nuestros intestinos y desempeña un papel importante en ayudar a nuestro organismo a digerir los alimentos. Sin embargo algunos tipos de *E. coli* son causantes de infecciones comunes tales como las del tracto urinario, infecciones intestinales, como diarrea del viajero y bacteriemia. Causa gran número de meningitis neonatal y numerosos cuadros como neumonías.²⁴

2.2.3.2 *Pseudomonas aeruginosa*

“Es una bacteria Gram negativa es considerado uno de los patógenos nosocomiales globalmente dominantes; ocasiona una amplia gama de infecciones, algunas tan graves como neumonía o bacteriemia, cuadro que se complica aún más debido a su resistencia intrínsecas a diversos antibióticos y a su capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia, implicadas a elevados índices de mortalidad y convirtiéndola en un serio problema de salud pública. Gran parte, de las infecciones ocasionadas por *P. aeruginosa* están relacionadas al ambiente hospitalario, constituyendo un grave problema clínico”.²⁵

2.2.3.3 *Staphylococcus aureus*

“Es un microorganismo Gram positivo, patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el ser humano y en los animales. Considerada la más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades que van desde infecciones de piel y tejidos blandos, bacteriemia, endocarditis, infección del SNC y del tracto genitourinario; infecciones graves que amenazan con la vida .Pueden presentar resistencia a múltiples antibióticos, sobre todo a la meticilina. A través de los años se ha incrementado la tasa de morbilidad y mortalidad a pesar del gran número de antibióticos disponibles que existen”.²⁶

2.2.3.4 *Bacillus subtilis*

“Es una bacteria Gram positiva se considera un organismo benigno, ya que no poseen rasgos que causan enfermedades. No se considera patógeno o toxico para los seres humanos, animales o plantas. El riesgo potencial asociado con el uso de esta bacteria en las instalaciones de fermentación es bajo. Este género se encuentra comúnmente en suelos y plantas. Es un controlador biológico, donde tienen un papel importante en ciclo del carbono y el nitrógeno. Algunas cepas son reconocidas por su patogenicidad contra larvas y mosquitos”.²⁷

2.3 FORMULACIÓN DE LAS HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis

- Los polifenoles presentes en las hojas de *Genipa americana* (jagua) son de tipo flavonoides y tienen actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos.

2.4 VARIABLES

- Variable independiente: Polifenoles del extracto etanólico de las hojas de *Genipa americana* (jagua).
- Variable dependiente: Tipos de polifenoles
Actividad antibacteriana.

2.4.1 Operacionalización de variables

- La variable polifenoles presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Genipa americana* (jagua) se ha operacionalizado en análisis fitoquímico del extracto para hallar su composición y posibles componentes activos.
- La variable tipos de polifenoles del extracto etanólico de las hojas de *Genipa americana* (jagua) se ha operacionalizado en análisis cromatográficos y elucidación estructural de flavonoides hallados.
- La variable actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Genipa americana* (jagua) se ha operacionalizado en búsqueda de inhibición del crecimiento de cepas de bacterias en cultivos de Mueller Hinton Agar.

2.5 MARCO CONCEPTUAL

In vitro: Es una técnica que consiste en realizar un experimento ya sea en un tubo de ensayo o en un ambiente controlado (laboratorio).

Patógeno: Microorganismo que daña a un huésped por invasión, lesión o porque producen sustancias tóxicas.

Cromatografía: Es un método en las que los componentes se han de separar y se distribuye en dos fases, una está en reposo, (fase estacionaria) y la otra se mueve en dirección definida (fase móvil).

Espectrofotometría: Es un método científico utilizado para medir cuanta luz absorbe una sustancia, y mediante ella identificar estructuras químicas.

Mueller Hinton Agar: Es un medio que carece de inhibidores, sustancia gelatinosa que se usa como medio de cultivo para el crecimiento de una gran cantidad de microorganismos tanto Gram positivos como Gram negativos y hongos. Recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad. Medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano.

Actividad Antibacteriana: Es la capacidad de matar, inhibir, y/o inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena.

Halos de inhibición: Es la zona alrededor de un disco de antibiótico, en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculado con gérmenes.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 TIPO DE ESTUDIO

Explicativo

Este estudio será de tipo explicativo, puesto que se explicarán los efectos que se encuentren a través de procedimientos experimentales.

3.2 NIVEL

Aplicado: Se denomina aplicado, puesto que para los hallazgos de resultados en nuestra investigación se aplicarán instrumentos de medición donde se reportarán los indicadores que se medirán por variable.

3.3 Diseño

Experimental.

3.4 POBLACIÓN

La población está constituida por plantas de *Genipa americana* de Tingo María.

3.5 MUESTRA

Las muestras será 500g de hojas frescas de *Genipa americana*.

3.6 ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

3.6.1 Población

Cepas de microorganismos

3.6.2 Muestra

Staphylococcus aureus, *Bacillus subtilis* (Gram +); *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -), del laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.7 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Para el estudio fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Genipa americana* (jagua) se realizaron mediante marcha fitoquímica, cromatografía en capa fina analítica y a escala preparativa, y espectrofotometría UV-Vis para hallar la estructura de componentes activos.
- Para evaluar la inhibición del crecimiento de cepas de bacterias en cultivos adecuados, se realizó la medición en mm de los halos de inhibición del crecimiento microbiano.

3.8 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.8.1 Recolecta de la Muestra Vegetal

Se recolectaron las hojas de *Genipa americana* (jagua) en la provincia de Tingo María y se recolectaron muestras representativas (hojas 2 kg) y se realizó una selección, en la que se apartaron las hojas enfermas de las aparentemente sanas.

3.8.2 Preparación de la Muestra

- Limpieza: Eliminar residuos que podrían contaminar la muestra.
- Secado: Bajo sombra a temperatura ambiente.
- Selección: Pesar la cantidad exacta a utilizar (500g).
- Reducción de tamaño: Con un molino a cuchillas.

3.8.3 Obtención del Extracto

Consistió en la maceración de hojas debidamente fragmentadas, se utilizó 500 g /2,500 mL de alcohol etílico de 96°, en un recipiente adecuado de color ámbar, se dejó en reposo por un periodo de 12 días con agitación periódica. Luego se filtró la solución macerada, finalmente se concentró en una estufa de aire circulante a 40 °C; hasta obtener el extracto seco.

Conservación: Frascos limpios de color ámbar con tapa ancha hermética.

3.8.4 Ensayos fitoquímicos

Prueba de Solubilidad:

El extracto etanólico seco, 5 mg se sometió a pruebas de solubilidad en solventes de polaridad creciente, con el fin de determinar el solvente más adecuado para el análisis cromatográfico.

Marcha Fitoquímica:

Se realiza reacciones de coloración y precipitación para la detección de compuestos orgánicos.

- **Gelatina:** Precipitado abundante, positivo para taninos.
- **Ninhidrina:** Para aminoácidos, se produce un color azul-violeta.
- **FeCl₃:** Para compuestos fenólicos, se observa de color azul-verde-violeta.
- **Reactivo de Mayer:** Para alcaloides, precipitado blanco.
- **Dragendorff:** Para determinar la presencia de alcaloides. Precipitado de color rojo ladrillo.
- **Hidróxido de Sodio:** Para quinonas, aparición de una coloración amarilla rojiza.
- **Prueba de Shinoda (Mg + HCl):** Para flavonoides, tono de color rojo.
- **Reactivo de Molish:** Para monosacáridos, se muestra un anillo de color violeta.

Análisis Cromatográfico en Capa Fina analítica

Permite identificar de forma rápida y a bajo costo los componentes presentes en el extracto en estudio.

Se basan en el fenómeno físico de adsorción, para la separación de las sustancias presentes en una mezcla compleja, al poner en contacto la fase móvil con la fase fija o estacionaria o adsorbente. Las sustancias van a migrar a través de la fase estacionaria arrastradas por la fase móvil a distinta velocidad según su afinidad o solubilidad.

Se han utilizado placas cromatográficas de sílica gel, tamaño porta objeto, se aplicó el extracto seco de hojas de *Genipa americana* (jagua), diluido en 0.5 mL de etanol, se realizó 5 aplicaciones en cada extremo, posteriormente

se colocó con mucho cuidado en la cámara de separación, previamente saturada con el sistema de solventes; en este caso se utilizó 3 mL de diclorometano y 1 mL de metanol. Durante aproximadamente 2 h y finalmente se reveló con una lámpara de luz UV a 254 y 365 nm.

Análisis Cromatográfico en Capa Fina a escala preparativa

Se han utilizado placas cromatográficas de sílica gel 60G, de 10 x 20 cm, se aplicó el extracto seco de hojas de *Genipa americana* (jagua), diluido en 0.5 ml de etanol, utilizando capilares nuevos; 10 aplicaciones; posteriormente se desarrolló en la cámara de separación previamente saturada con el sistema de solventes adecuado; en este caso se utilizó la proporción de 3:1 de diclorometano y de etanol. Durante aproximadamente 3 h. Luego se reveló con una lámpara de luz UV a 254 nm y 366 nm.

Espectrofotometría UV-Vis

Permite el reconocimiento de grupos funcionales; estructuras químicas, grupos químicos capaces de absorber en el rango UV.

Se realizó la desorción en etanol de las manchas correspondientes de la placa cromatográfica revelada, cuidadosamente y enumerándolas correlativamente; recibiendo en viales, las que finalmente se leyeron en el espectrofotómetro UV- Vis.

3.8.5 Evaluación de la Actividad Antibacteriana

Para la evaluación de la actividad antibacteriana se utilizaron placas de Petri con medio agar *Mueller Hinton*, en las que se inocularon las cepas de bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Se dividió la placa Petri en 3 porciones, y se realizó 3 repeticiones; en las cuales se hicieron 3 pequeños pocitos para que contengan aproximadamente 0.1mL (100 uL) de las soluciones; Se hicieron 3 tratamientos, en el primer pocito estará el tratamiento control (TI), donde solo se colocara etanol al 96° y en las dos siguientes se adicionara las soluciones al 50% y 100% (TII y TIII), del extracto de hojas de *Genipa americana* (jagua). Refrigerar por 30 minutos para evitar que la bacteria crezca antes que el extracto se difunda. Se dejó

incubando en la estufa aproximadamente por 24 horas para después medir los halos en cada uno de los tratamientos.

La actividad antibacteriana del extracto se evaluó por el método de difusión en agar Mueller Hinton y los halos de inhibición según el criterio de interpretación basados en el método de Kirby-Bauer.^{30, 31}

CAPITULO IV

PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

Obtención del extracto:

Tabla N° 1: Porcentaje de rendimiento del extracto de hojas de *Genipa americana* (jagua)

	Peso	Porcentaje
Muestra vegetal	500 g	100 %
Extracto etanólico	34.3 g	6.86 %

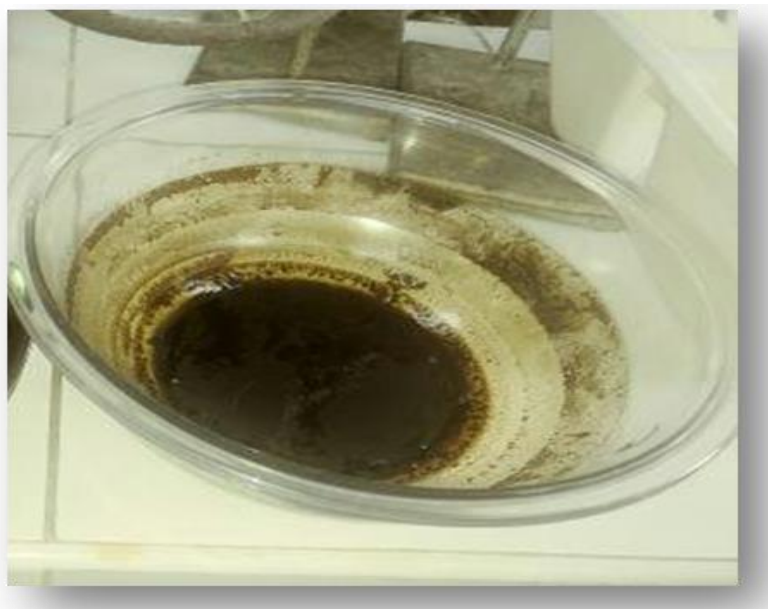


Figura N° 1: Extracto seco de hojas de *Genipa americana* (jagua).

Prueba de solubilidad:

Tabla N° 2: Prueba de solubilidad del extracto de hojas de *Genipa americana* (jagua)

SOLVENTES (1 mL) en 5 mg de extracto	SOLUBILIDAD
1. Agua	++
2. Alcohol 96°	+++
3. Metanol	++
4. Butanol	-
5. Diclorometano	+

(+++)
(++) Soluble, (++) Medianamente soluble, (+) Poco soluble, (-) Insoluble

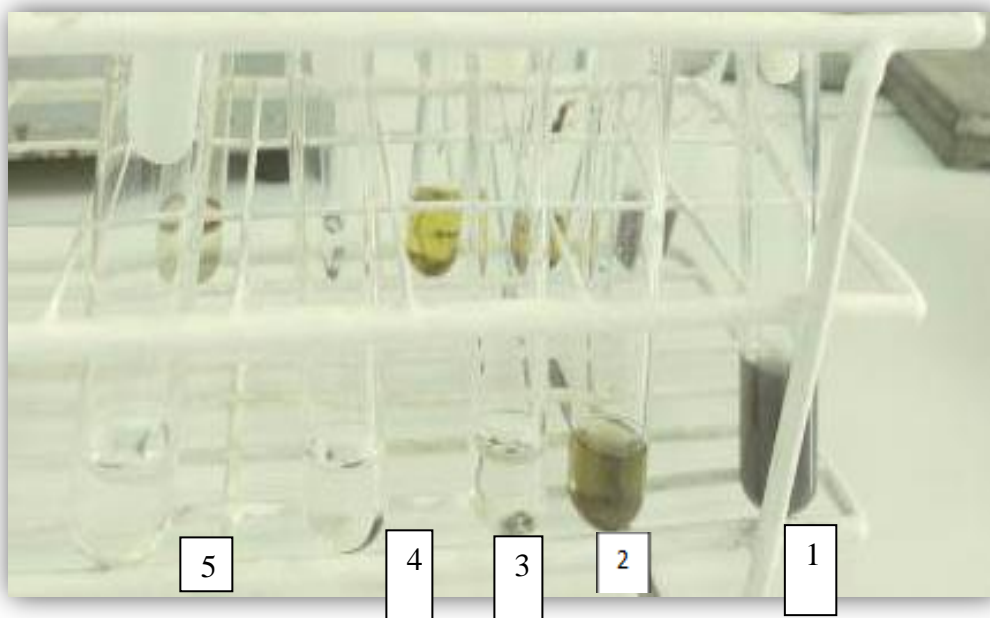


Figura N° 2: Prueba de solubilidad de hojas de *Genipa americana* (jagua).

Marcha fitoquímica:

Tabla N° 3: Marcha fitoquímica del extracto de hojas de *Genipa americana* (jagua)

REACTIVOS / 5mg de extracto	RESULTADOS
1. Gelatina	-
2. Ninhidrina	-
3. Cloruro Férrico	+++
4. Reactivo de Mayer	+
5. Dragendorff	+
6. Hidróxido de Sodio	+
7. Shinoda	++
8. Molish + Ácido sulfúrico	+

(+++)
(++) Bastante, (++) Regular, (+) Poco, (-) Negativo



Figura N° 3: Marcha fitoquímica del extracto de hojas de *Genipa americana* (jagua).

Análisis cromatográfico en capa fina analítica:



(a)



(b)

Figura N° 4: Cromatografía en capa fina analítica, fase fija: sílica gel 60G y fase móvil: diclorometano: etanol 3:1 a) 254 nm y b) 365 nm de hojas de *Genipa americana* (jagua).

Análisis cromatográfico a escala preparativa:



(a)



(b)

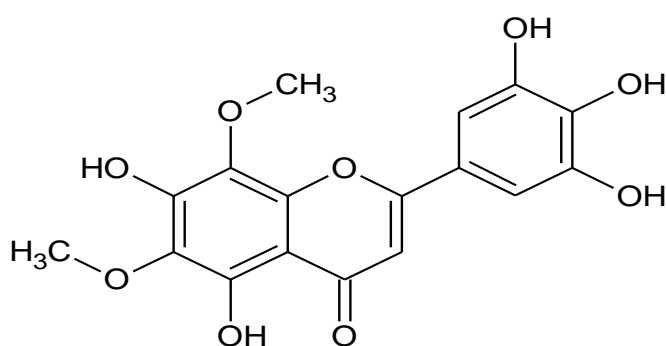
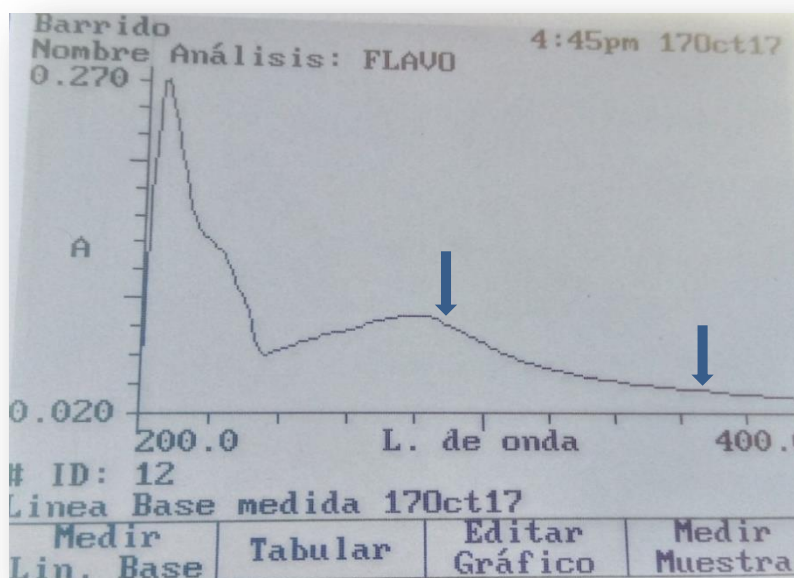
Figura N° 5: Cromatografía en escala preparativa fase fija: sílica gel 60G 10 x 20 cm y fase móvil: diclorometano: etanol 3:1 a) 254 nm y b) 365 nm de hojas de *Genipa americana* (jagua).

Elucidación estructural de flavonoides aislados de hojas de *Genipa americana* (jagua), mediante espectrofotometría UV- Vis.

Flavonoides de *Genipa americana* (jagua)

M1

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 285, 365 nm

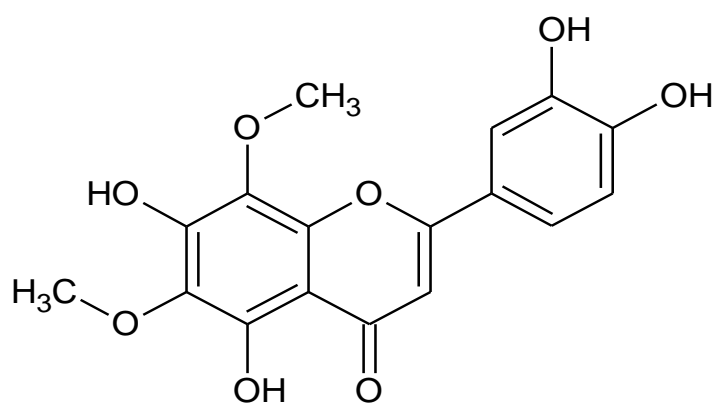
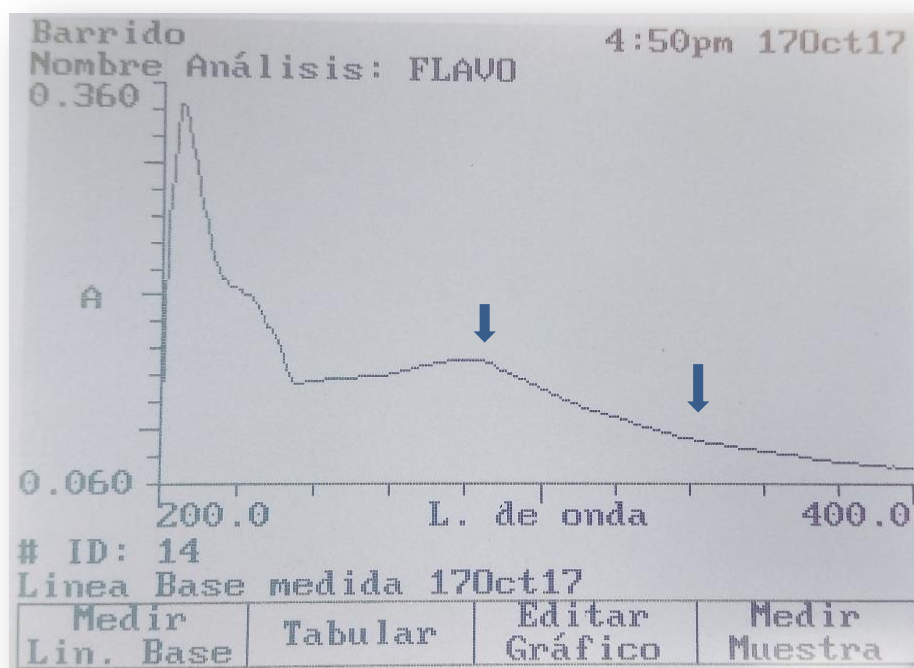


3', 4', 5', 5,7-pentahidroxi-6,8-dimetoxiflavona

Figura N° 6: Muestra 1 a) Espectro UV-Vis b) Estructura propuesta.

M3

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 285, 350 nm

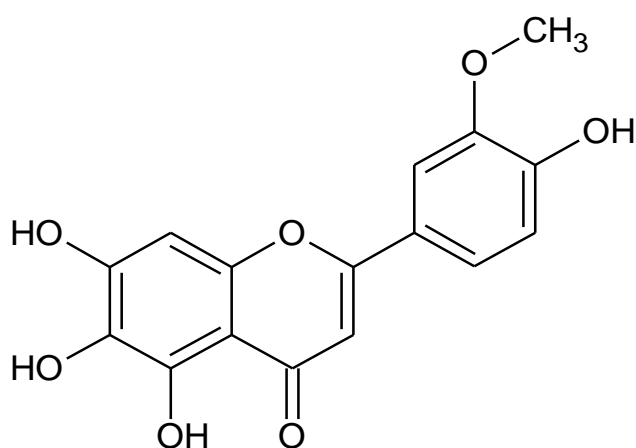
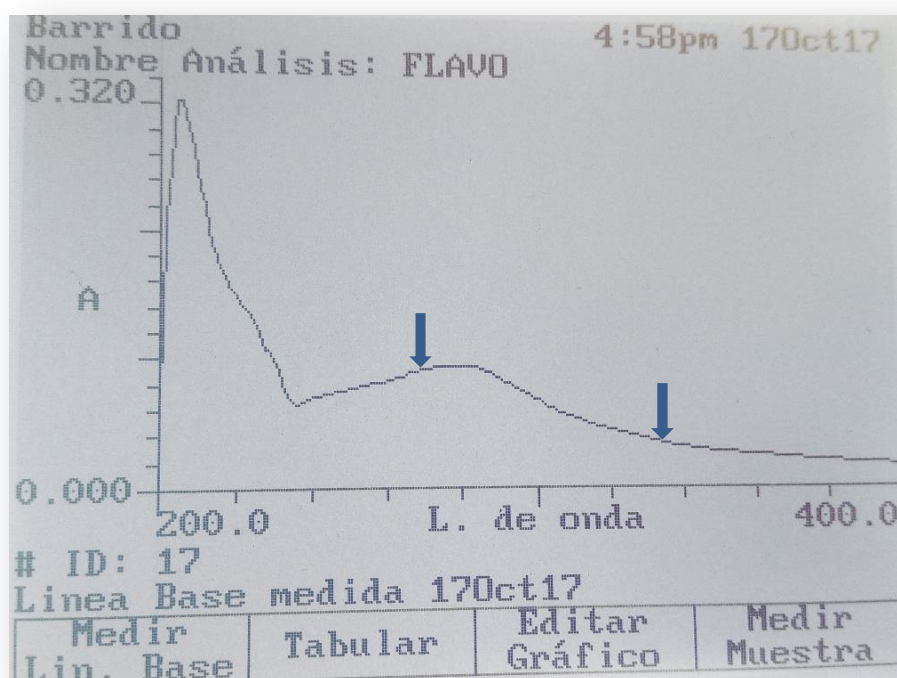


3', 4', 5,7-tetrahidroxi-6,8-dimetoxiflavona

Figura N° 7: Muestra 3 a) Espectro UV-Vis b) Estructura propuesta.

M7

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 275, 340 nm

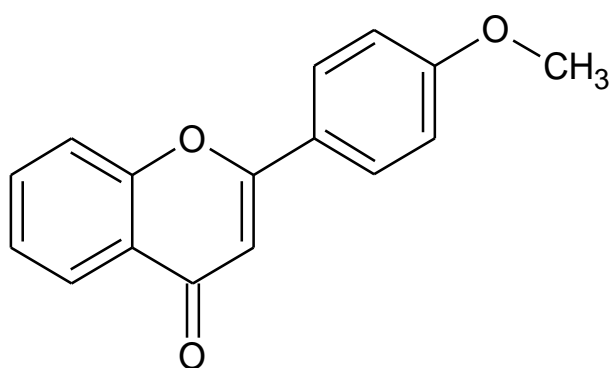
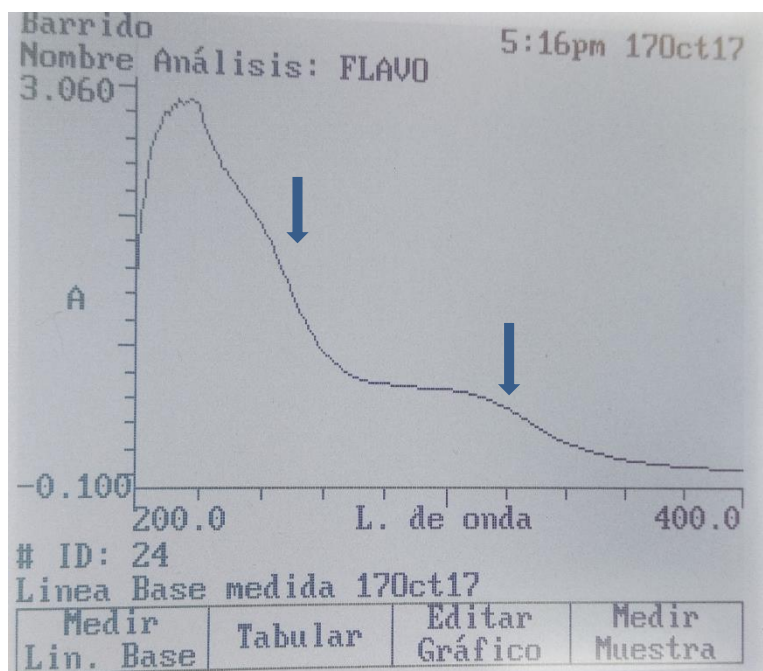


4', 5, 6, 7-tetrahidroxi-3'-metoxiflavona

Figura N° 8: Muestra 7 a) Espectro UV-Vis b) Estructura propuesta.

M14

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 242, 315 nm



4'-metoxiflavona

Figura N° 9: Muestra 14 a) Espectro UV-Vis b) Estructura propuesta.

Actividad antibacteriana:

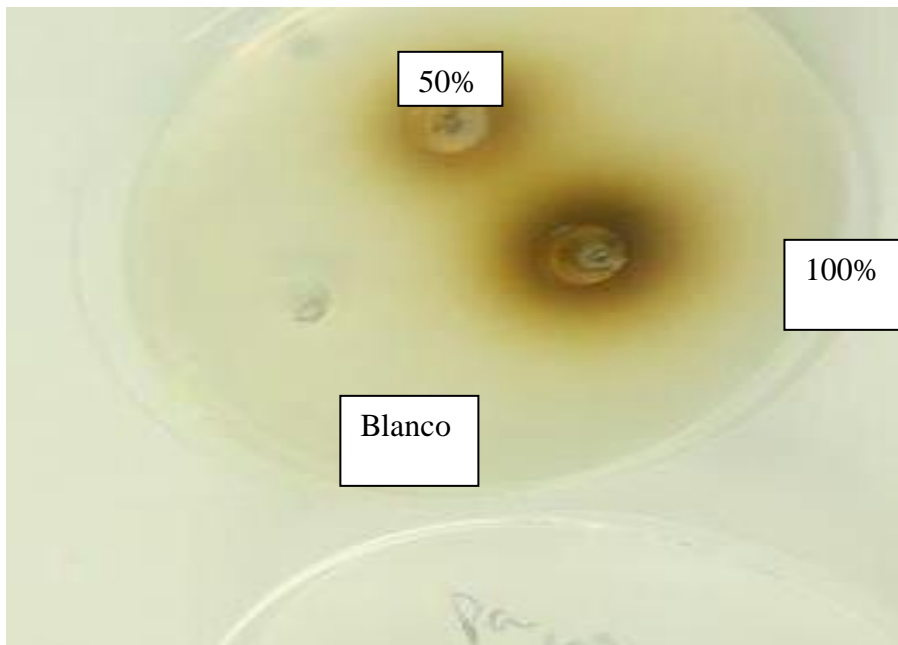


Figura N° 10: Lectura de Placa con *Pseudomonas aeruginosa*, y la muestra de estudio a diferente concentración.

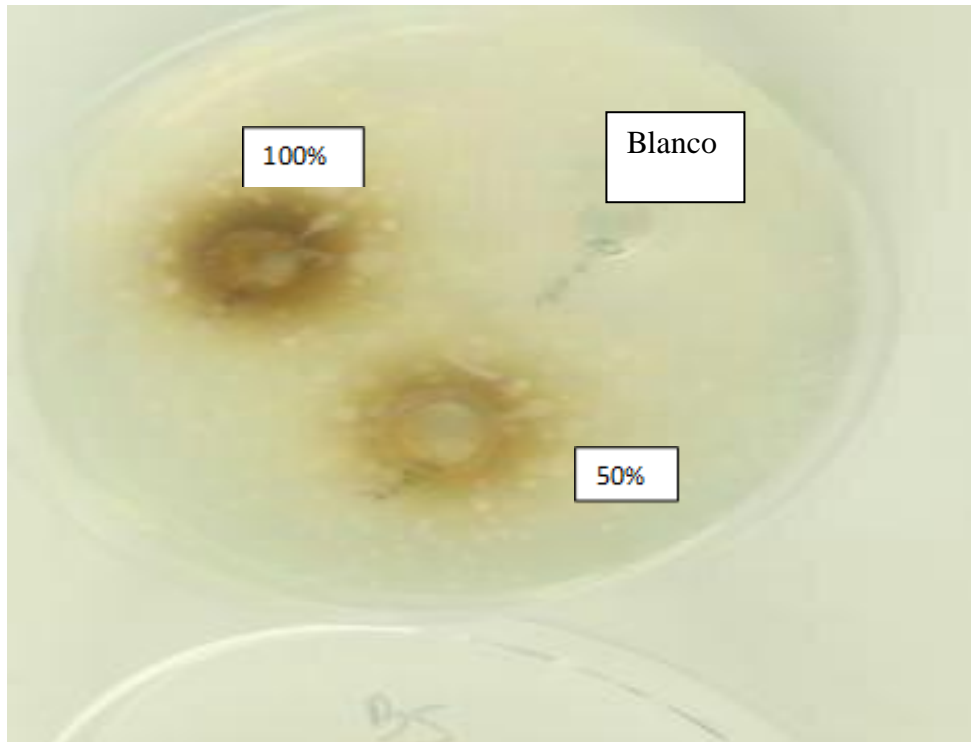


Figura N° 11: Lectura de Placa con *Bacillus Subtilis*, y la muestra de estudio a diferente concentración.

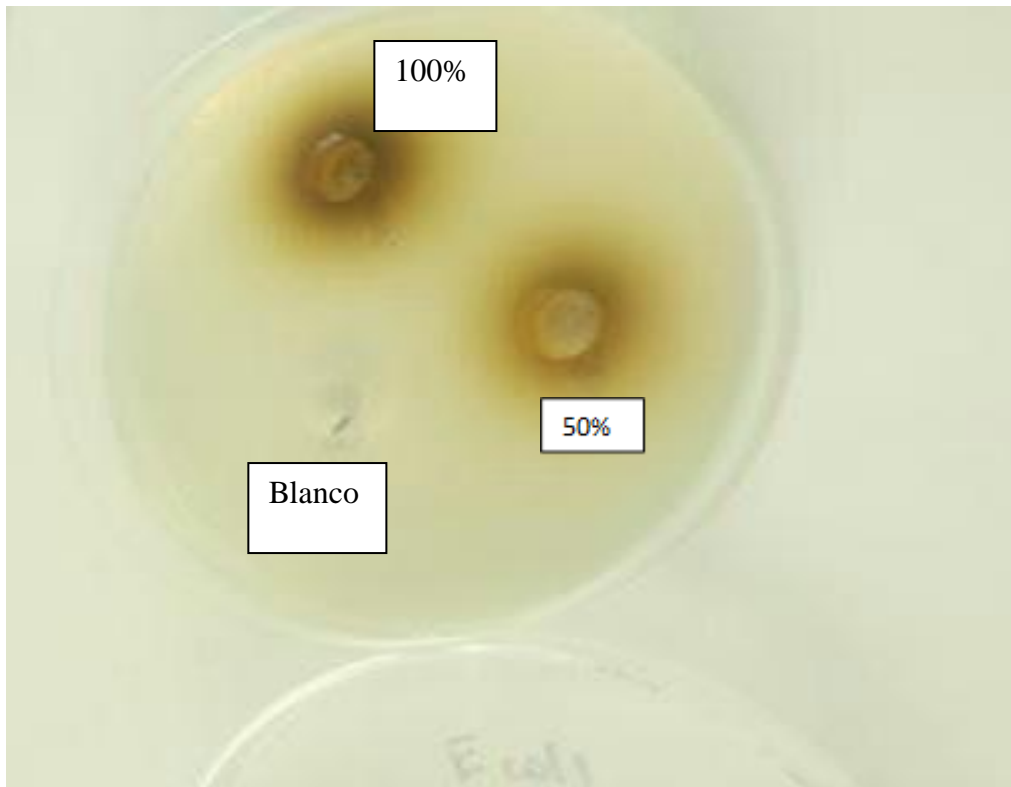


Figura N° 12: Lectura de Placa con *Escherichia coli*, y la muestra de estudio a diferente concentración.

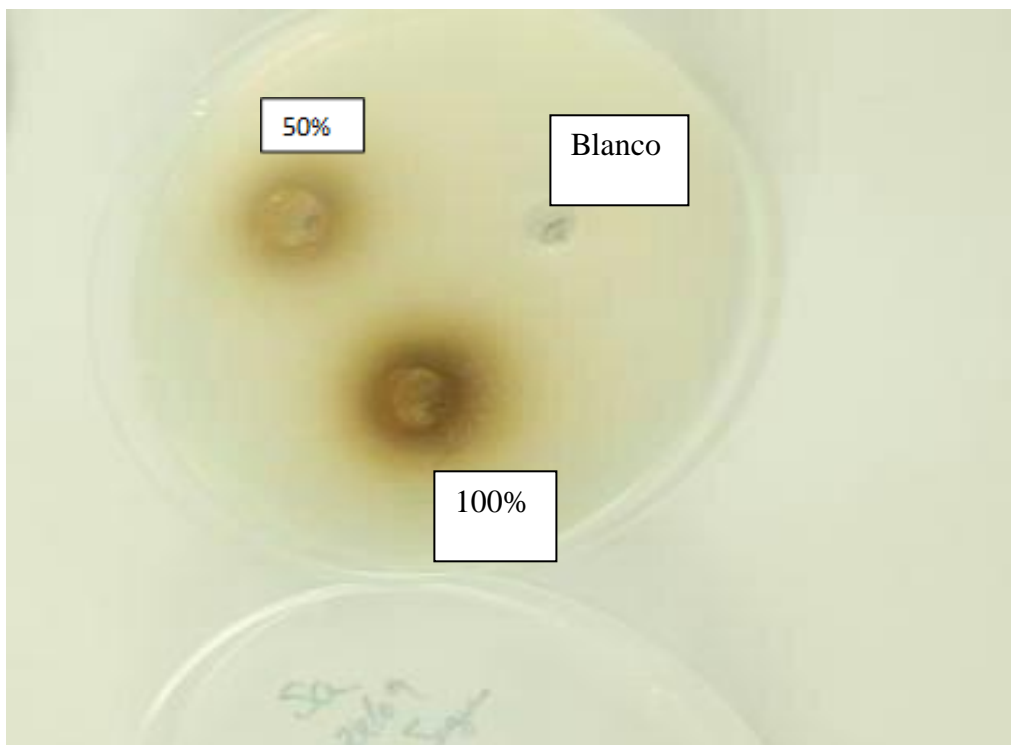


Figura N° 13: Lectura de Placa con *Staphylococcus aureus*, y la muestra de estudio a diferente concentración.

4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A partir de una solución de 500 g de hojas de *Genipa americana* (jagua), en 2.500 mL de etanol de 96°, se obtuvo 34,3 g de extracto seco por maceración, lo cual equivale a 6,86 % de rendimiento. Tabla 01.

Mediante la prueba de solubilidad Tabla 02 se observa que el extracto de hojas de *Genipa americana* (jagua), es bastante soluble en solventes polares como el agua y el etanol.

Mediante la marcha fitoquímica del extracto de hojas de *Genipa americana*. Tabla 03. Se observa compuestos fenólicos tipo flavonoides, quinonas y glicósidos.

A través del análisis cromatográfico tanto en capa fina analítica como a escala preparativa Figura 04 y 05 al realizar la lectura en una lámpara UV a 254 nm se observan manchas oscuras y a 365 nm manchas fluorescentes; que nos indica la presencia de componentes activos.

Se realizó la elucidación estructural de compuestos polifenólicos aislados de hojas de *Genipa americana* (jagua), se desorbieron manchas positivas al tricloruro de hierro que nos indica presencia de compuestos de estructura fenólica, se corrió sus respectivos espectros UV-Vis en etanol y de acuerdo a lo publicado por T. J. Mabry, K.R. Markham and M.B. Thomas²⁸ y Olga Lock²⁹ luego de realizar comparaciones con los espectros publicados por dichos autores y adecuaciones con los espectros obtenidos, se proponen las siguientes estructuras para las fracciones aisladas: 3', 4', 5', 5,7-pentahidroxí-6,8-dimetoxiflavona, 3', 4', 5,7-tetrahidroxí- 6,8-dimetoxiflavona, 4', 5, 6,7-tetrahidroxí-3'-metoxiflavona, 4'-metoxiflavona.

Con respecto a la evaluación de la actividad antibacteriana propuesta del extracto de las hojas de *Genipa americana* (jagua), luego de realizar el trabajo experimental en laboratorio frente a cepas de *Pseudomona aeruginosa*, *Bacillus Subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Y seguir la metodología propuesta por Kirby-Bauer. Finalmente no se

observaron halos de inhibición; por lo tanto se concluye que no tienen actividad antibacteriana. Pero como se halló varios tipos de flavonas que son compuestos polifenólicos, tendrían otra actividad biológica como: antiinflamatorias, antioxidantes, cicatrizantes.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

1. Se obtuvo del extracto etanólico de las hojas de *Genipa americana* (jagua) cuatro flavonas y se propone su estructura química: 3', 4', 5', 5,7-pentahidroxi-6,8-dimetoxiflavona, 3', 4', 5,7-tetrahidroxi- 6,8-dimetoxiflavona, 4', 5, 6,7-tetrahidroxi-3'-metoxiflavona, 4'-metoxiflavona.
2. Con referencia a la actividad antibacteriana del extracto etanólico obtenido de las hojas de *Genipa americana* (jagua), por el método de difusión de disco en agar, no se observaron halos de inhibición; por lo tanto se concluye que no tiene actividad antibacteriana.

5.2 RECOMENDACIONES

1. Profundizar la Investigación comparativa entre el fruto maduro, verde con respecto a su actividad antibacteriana.
2. Se recomienda realizar estudios de las hojas de Genipa americana con efecto antioxidante, antiinflamatoria, y cicatrizante; ya que hay presencia de flavonoides.
3. En la evaluación de la actividad antibacteriana hay factores que influyen en los resultados como: el tamaño del inóculo, temperatura, y tiempo de incubación, por ello se debe controlar adecuadamente durante el procedimiento microbiológico y evitar las posibles contaminaciones de otras bacterias ambientales que puedan interferir en el ensayo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Madigan M et al. "Biología de los Microorganismos". Décima edición. Madrid.España.2004.
2. Lock O. "Investigación en Productos Naturales". Sociedad Química del Perú.Peru.2011.
[Disponible en:
http://agendaquimica.blogspot.pe/2011/04/investigacion-en-productos-naturales_25.html]
3. Centrángolo O. Es Salud. "El sistema de salud del Perú-2013".
[Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2401.pdf>]
4. Crisóstomo A, Osorio Y. Tesis "Actividad antibacteriana in vitro del extracto del Jagua (*Genipa americana* L.) Frente a *Staphylococcus aureus*". Universidad Hermilio Valdizán, Huánuco. 2014.
5. Rojas C et al. "Aislamiento de pigmentos de huito (*Genipa Americana*) y aplicación en teñido de fibras proteicas (Alpaca)", Universidad Nacional de Ingeniería. Lima-Perú.2013.
6. Lares C. "Obtención de Genipina a partir de frutos de caruto (*Genipa americana* L.), del llano venezolano". Artículo Científico. Facultad de Ciencias. Venezuela.2014.
7. Tenesaca S. "Elaboración de cosméticos decorativos a partir de frutos verdes de *Genipa americana* L." Tesis de grado Bioquímico Farmacéutico. Riobamba-Ecuador.2012.

8. Álvarez G. "Extracción, caracterización y valoración de Genipina a partir del Fruto de la *Genipa americana*. Facultad de ciencias naturales. Santiago de Cali".2013.
9. Martínez A. "Elaboración de un producto cosmético para tinción del cabello a partir del extracto de los frutos del huito, planta nativa del centro cultural unishu de la comuna chiguilpe de santo domingo de los tsáchilas", Facultad de ciencias médicas farmacia y bioquímica. Ambato-Ecuador.2016.
10. Barboza D. "Avaliação Fitoquímica e Farmacológica de *Genipa americana* L. (Rubiaceae). Faculdade de Farmácia., Universidade Federal do Rio de Janeiro., Rio de Janeiro- Brasil. TESE".2008.
11. Rojas C. "Aislamiento de pigmentos de Huito (*Genipa americana*) y Aplicación en teñido de fibras proteicas (alpaca) (Tesis). Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ingeniería Química y Textil. Lima – Perú".2013.
[Disponible en:
http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/2353/1/rojas_rc.pdf]
12. Sotero V et al. "Evaluación de la actividad antioxidante de seis frutales amazónicos: anona, castaña, chope, huasai, huito y uvilla. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana".2011.
13. UNITED NATIONS CONFERENCE ON TRADE AND DEVELOPMENT (UNCTAD). "MARKET BRIEF IN THE EUROPEAN UNION FOR SELECTED NATURAL INGREDIENTS DERIVED FROM NATIVE SPECIES. *Genipa americana*. Jagua, huito". 2005. 38 p.
[Disponible en: www.unctad.org/biotrade/docs/biotradebrief-genipaamericana.pdf, documentos, 12 de Junio 2010]
14. Pérez O. "Obtención de un colorante a partir de *Genipa americana* y su Aplicación en Textiles. Tesis. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales". Medellín – Colombia 2000.

15. Francis J. "Genipa americana L. Jagua, genipa". Southern Forest Experiment Station, New Orleans, EEUU. 231-235 p.
[Disponible en: www.fs.fed.us/global/iitf/Genipaamericana.pdf, documentos, 13 de Junio 2008]
16. Gastón A. "Evaluación de la variación del contenido de polifenoles en alimentos vegetales, en función del método de conservación empleado" Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Cuyo. Mendoza-Argentina.2016.
[Disponible en:
[Http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/7350/tesis-brom.-almonacid-gastn-federico-2016.pdf](http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/7350/tesis-brom.-almonacid-gastn-federico-2016.pdf)]
17. Flores D. "Polifenoles en aceitunas y aceites. Universidad Juan Agustín Maza.Tesis".2015.
18. Quiñones M et al. "Los Polifenoles compuestos de Origen Natural con Efectos Saludables sobre el Sistema Cardiovascular". Facultad de Medicina. Universidad Complutense Madrid. Nutr Hosp.2012; 27(1):80-81.
19. Cofre A. "Determinación de Polifenoles Totales, Actividad Antioxidante y Antocianinas de jugo de murtilla (Ugni molinae Turcz) Obtenido por condensación de vapor. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia.Chile".2015.
[Disponible en:
<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2015/fac675d/doc/fac675d.pdf>]
20. Latorre M. "Polifenoles de la Uva .Facultad de Farmacia. Tesis. Universidad de Complutense Madrid.2016.
[Disponible en:
<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARIA%20LATORRE%20LEA L.pdf>]

21. Molina J, Uribarren T. "Generalidades de Bacterias". Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. México.2017.
[Disponible en:
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/generalidades.html>]
22. López J. "Conceptos básicos de la microbiología". Director de Aguas Subterráneas y Geotecnia.
[Disponible en: http://aguas.igme.es/igme/publica/pdflib8/1_caract.pdf]
23. Uribarren T, Molina J. "Bacterias de interés médico". Facultad de Medicina de la UNAM.México.2013.
[Disponible en:
www.scoop.it/t/bacterias/p/4000784636/2013/04/.../generalidades-de-bacterias-unam]
24. Álvarez J. "Mapa Bacteriológico de Bacilos Gram negativos". Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Complutense.Madrid.1991.
[Disponible en:
biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/D/0/D0004901.pdf]
25. Hernández J. "Las Bacterias Gram negativas y su influencia en la cicatrización de úlceras de pie diabético". Tesis Doctoral. Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología. Universidad Complutense de Madrid. España.2014.
[Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=100438>]
26. Borraz C. "Epidemiología de la Resistencia a metilicina en cepas de *Staphylococcus aureus* en Hospitales Españoles". Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona.2006.
[Disponible en:
www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2513/CBO_TESIS_DOCTORAL.pdf]

27. Cuervo J. "Aislamiento y Caracterización de *Bacillus spp.* como Fijadores Biológicos de Nitrógeno y Solubilizadores de Fosfatos en dos Muestras de Biofertilizantes Comerciales". Facultad de Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 2010.
[Disponible en:
www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis404.pdf]
28. T. J. Mabry, K.R. Markham and M.B. Thomas. "The Systematic Identification of Flavonoids". New York. Heidelberg. Berlin 1970.
29. Lock O. "Investigación Fitoquímica: Métodos en el Estudio de Productos Naturales. 2ª. Ed. Fondo Editorial. PUCP. Lima .Peru". 1994.
30. Valenzuela M. "Sensibilidad Antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* Aislados de Mastitis Clínica Bovina en Rebaños Lecheros de la Región de los Ríos". Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. 2010.
[Disponible en:
<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2010/fcv161s/doc/fcv161s.pdf>]
31. Cona E. "Condiciones para un buen Estudio de Susceptibilidad mediante Test de Difusión en Agar: Infectología". Vol. 19 .Santiago. Chile. 2002.
[Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071610182002019200001]

Anexo 1. Matriz de Consistencia

TÍTULO	DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS	CLASIFICACIÓN DE VARIABLES	METODOLOGIA	POBLACION, MUESTRA
“Obtención de polifenoles de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua) y Evaluación de su actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos”.	<p>Problema</p> <p>¿Qué tipos de polifenoles estarán presentes en las hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua) y tendrán actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos?</p>	<p>Objetivo General:</p> <p>Determinar el tipo de polifenoles que tienen las hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua) y evaluar si tienen actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos.</p>	<p>Hipótesis</p> <p>Los polifenoles presentes en las hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua) son de tipo flavonoides y tienen actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos.</p>	<p>Variable Independiente:</p> <p>Polifenoles del extracto etanólico de las hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua).</p>	<p>Tipo de estudio</p> <p>Explicativo</p> <p>nivel</p> <p>Aplicado</p> <p>Diseño</p> <p>Experimental</p>	<p>Población</p> <p>Plantas de <i>Genipa americana</i> de Tingo María.</p> <p>Muestra</p> <p>500g de hojas frescas de <i>Genipa americana</i>.</p>
		<p>Objetivos Específicos:</p> <p>Preparar el extracto etanólico de las hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua) y obtener los polifenoles.</p> <p>Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Genipa americana</i> (jagua).</p>		<p>Variable Dependiente:</p> <p>Tipos de polifenoles</p> <p>Actividad Antibacteriana</p>		

Anexo 2. Testimonios Fotográficos



Figura N° 14: Fotografía de hojas seleccionadas de *Genipa americana* (jagua).

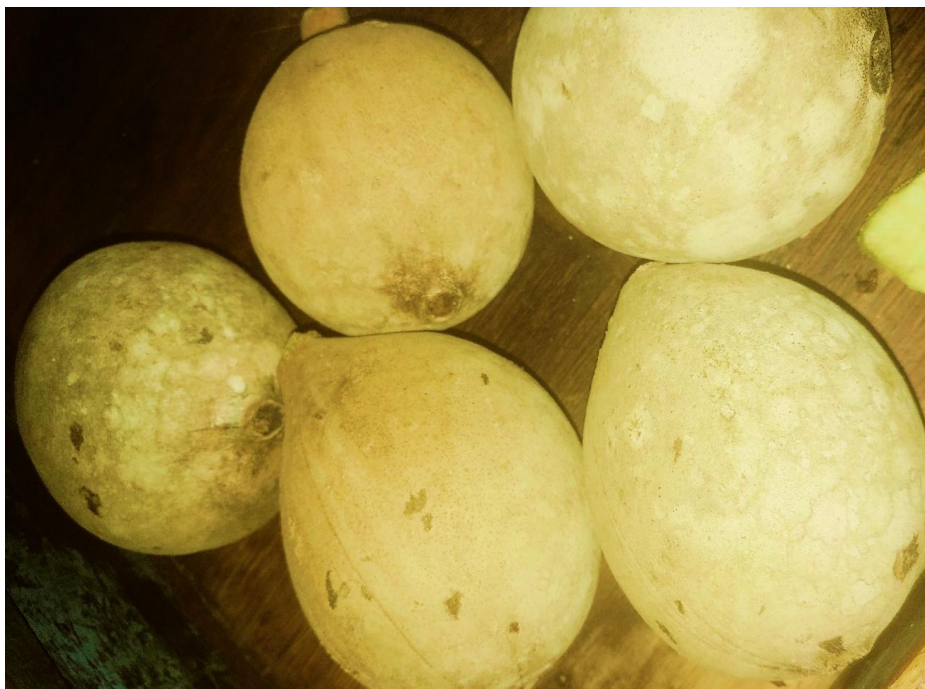


Figura N° 15: Fotografía del fruto de *Genipa americana* (jagua).



Figura N° 16: Fotografía de la solución de 500 g de hojas de *Genipa americana* (jagua), en 2.5 L de etanol.



Figura N° 17: Fotografía del proceso de filtración de la solución de las hojas de *Genipa americana* (jagua).



Figura N° 18: Fotografía de la solución de hojas de *Genipa americana* lista para el secado del extracto en la estufa.



Figura N° 18: Fotografía del extracto seco de las hojas de *Genipa americana*.



Figura N° 19: Fotografía de la prueba de solubilidad del extracto seco de hojas de *Genipa americana*.



Figura N° 20: Fotografía de la marcha fitoquímica del extracto seco de hojas de *Genipa americana*.

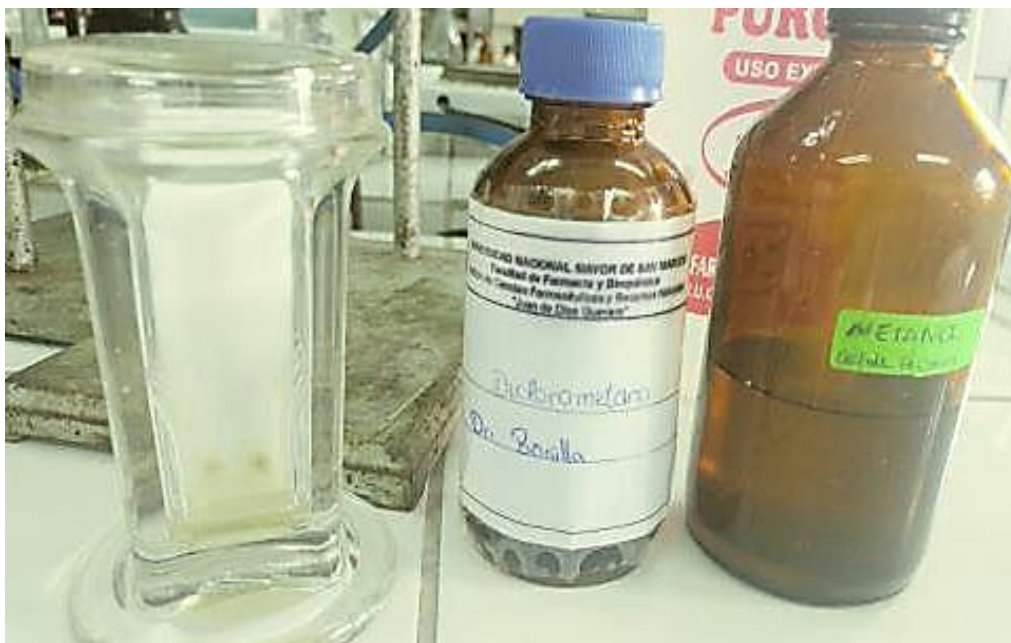


Figura N° 21: Fotografía del análisis cromatográfico en capa fina del extracto seco de hojas de *Genipa americana*.

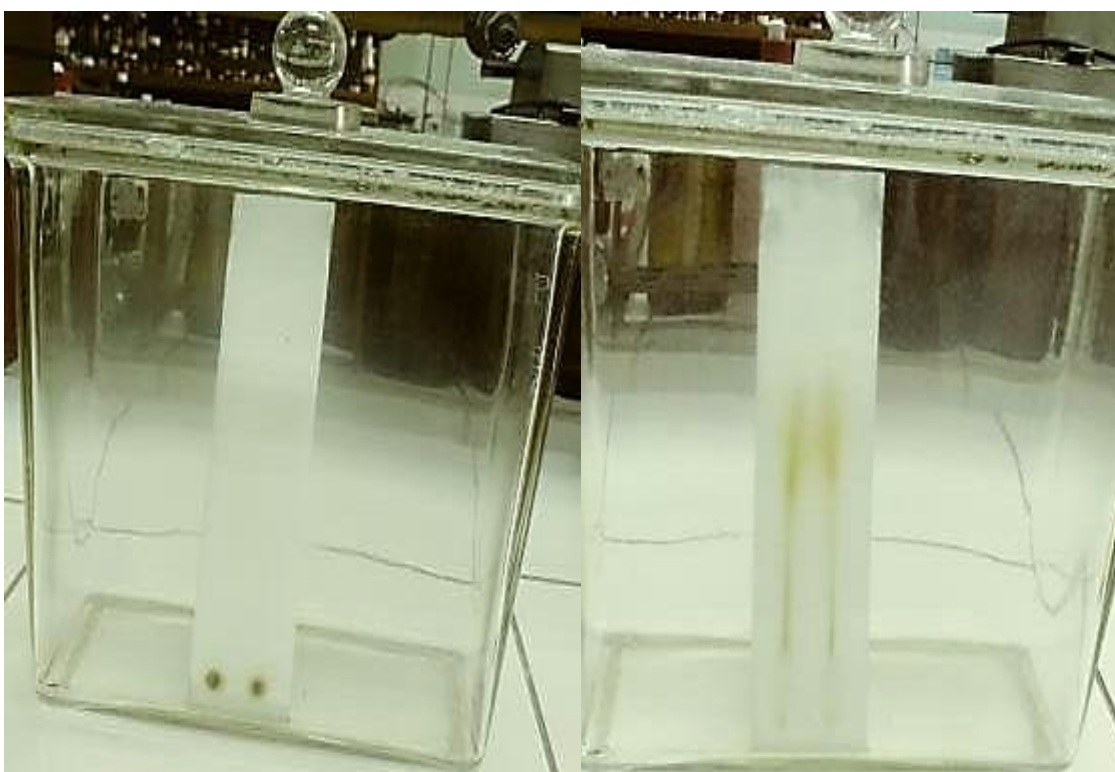


Figura N° 22: Fotografía del análisis cromatográfico en capa preparativa del extracto seco de hojas de *Genipa americana*.



Figura N° 23: Fotografía de las placas Petri listas para la incubación por 24 h.



Figura N° 24: Fotografía de la lectura de placa con *Escherichia coli*, no se observan halos de inhibición.

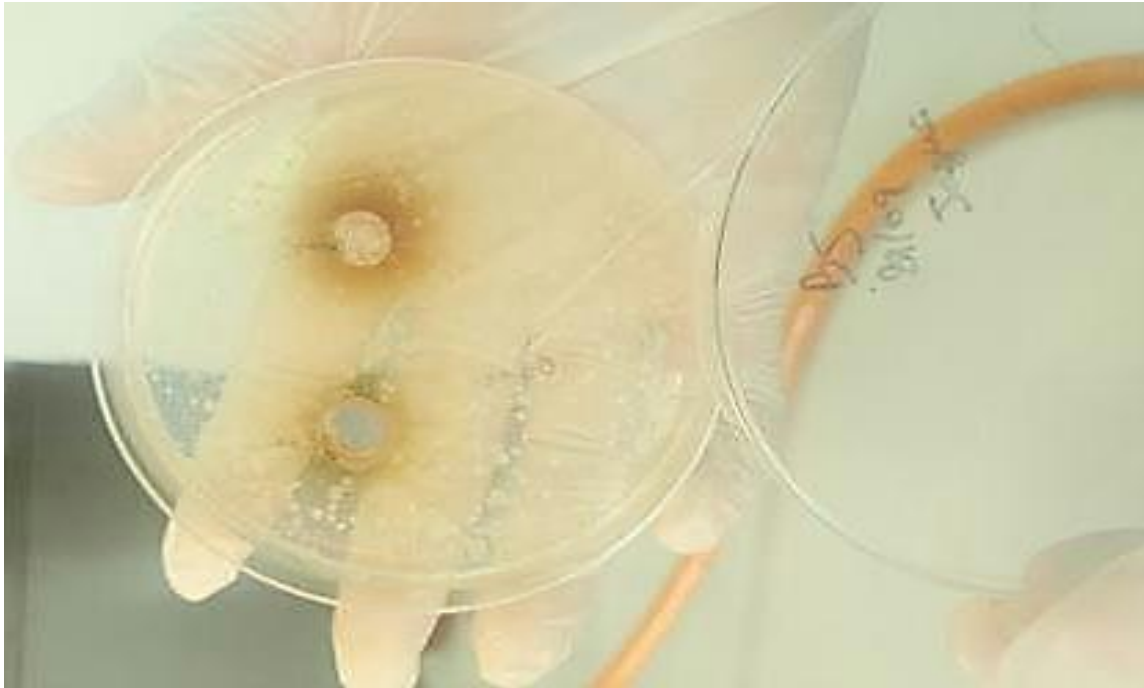


Figura N° 25: Fotografía de la lectura de placa con *Bacillus subtilis*, no se observan halos de inhibición.



Figura N° 26: Fotografía de la lectura de placa con *Pseudomonas aeruginosa*, no se observan halos de inhibición.



Figura N° 27: Fotografía de la lectura de placa con *Estafilococcus aureus*, no se observan halos de inhibición.